

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-125810

(43)Date of publication of application : 09.05.2000

(51)Int.Cl.

A23L 1/28  
A23L 1/30  
A23L 2/52  
A23L 2/38  
// A61P 29/00  
A61P 31/00  
A61K 35/74  
A61K 35/78

(21)Application number : 10-320078

(71)Applicant : YANGU KK

(22)Date of filing : 22.10.1998

(72)Inventor : FUJIMURA HISASHI

**(54) CONCENTRATED BEVERAGE HAVING SUPPRESSING ACTION ON INFLAMMATION AND PROTECTING ACTION ON INFECTIOUS DISEASE**

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a concentrated beverage having suppressing actions on inflammations, protecting actions on infectious diseases, immunomodulating actions and recovering actions and suitable for a healthy beverage, etc., by including a yeast fungus and a lactic acid bacterium.

**SOLUTION:** This concentrated beverage comprises (A) a yeast fungus such as a yeast and (B) a lactic acid bacterium such as *Bacillus bulgaricus*. The concentrated beverage is preferably a concentrate of a filtrate of a culture solution prepared by symbiotic culture of plural species of useful microorganisms selected from the yeast fungi and lactic acid bacteria. A soybean milk from completely organic guaranteed soybeans is preferably used as a raw material.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination] 18.04.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3276929

[Date of registration] 08.02.2002

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

BEST AVAILABLE COPY

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号  
特開2000-125810  
(P2000-125810A)

(43)公開日 平成12年5月9日(2000.5.9)

| (51)Int.Cl. <sup>7</sup>            | 識別記号 | F I           | テマコード(参考)       |
|-------------------------------------|------|---------------|-----------------|
| A 2 3 L 1/28                        |      | A 2 3 L 1/28  | Z 4 B 0 1 7     |
| 1/30                                |      | 1/30          | Z 4 B 0 1 8     |
| 2/52                                |      | 2/38          | G 4 C 0 8 7     |
| 2/38                                |      | A 6 1 K 31/00 | 6 2 9 4 C 0 8 8 |
| // A 6 1 P 29/00                    |      |               | 6 3 1           |
| 審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 9 頁) 最終頁に続く |      |               |                 |

|          |                           |         |   |
|----------|---------------------------|---------|---|
| (21)出願番号 | 特願平10-320078              | (71)出願人 | 598155656<br>ヤング株式会社<br>東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 帝国ホテル本館5階514号 |
| (22)出願日  | 平成10年10月22日(1998. 10. 22) | (72)発明者 | 富士村 寿<br>東京都千代田区内幸町1丁目1番1号帝国ホテル本館5階514号 ヤング株式会社内        |
|          |                           | (74)代理人 | 100103854<br>弁理士 藤田 邦彦 (外1名)                            |
|          |                           | 最終頁に続く  |   |

(54)【発明の名称】 炎症抑制作用及び感染症防御作用のある濃縮飲料

(57)【要約】

【解決手段】 酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液の濃縮液。

【効果】 このようにして得られた微生物醗酵生産物には炎症抑制作用があり、これを飲用することにより関節炎ならびにアレルギー反応など急性及び慢性の各種炎症を抑制することができる。また、免疫機能が正常な場合と抑制状態にある場合のカビ感染に対して免疫を調整、回復させる作用もあることから、各種感染症又は日和見感染症を防御することが可能である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】酵母菌と乳酸菌とからなることを特徴とする炎症抑制作用及び感染症防御作用のある濃縮飲料。

【請求項 2】酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液の濃縮液である請求項 1 記載の炎症抑制作用及び感染症防御作用のある濃縮飲料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、炎症抑制作用及び感染症防御作用のある濃縮飲料、さらに詳しくは、酵母菌と乳酸菌とからなる炎症抑制作用及び感染症防御作用のある濃縮飲料に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】医薬用ドリンク剤、スポーツ飲料あるいは清涼飲料など各種の飲料製品が市販されている。これらの飲料製品には、栄養価、嗜好性あるいは保存性などを高めるために人工の食品添加物が添加されているものが多い。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】これら人工の食品添加物は必ずしも健康上全く弊害がないとは言えず、人体への有害性が社会問題となるケースも散見される。本発明

者は、かねてより人工の添加物を使用しない微生物醗酵生産物による飲料を提供することにつき、鋭意研究を重ねた。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】その結果、酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液から、濃縮法によってアミノ酸、ビタミン及びミネラルなどの有効成分をバランス良く含有し栄養価が高い濃縮液が得られること、及び、この濃縮液が健康飲料として適するものであることを見出した。そして、さらに研究を重ねて行くうちに、この濃縮飲料に炎症抑制作用及び感染症防御作用があることを見出した。本発明は、かかる知見に基づくものである。すなわち、本発明に係る炎症抑制作用及び感染症防御作用がある濃縮飲料は、酵母菌と乳酸菌とからなるものである。さらに詳しくは、酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液の濃縮液からなるものである。本発明に係る濃縮飲料の製造に際し用いられる有益菌（酵母菌、乳酸菌）としては、表 1 に示すものなどを挙げることもできる。

## 【0005】

## 【表 1】

## 濃縮飲料の製造に用いられる有益菌

|    |                    |      |         |
|----|--------------------|------|---------|
| 1  | Bac. Bulgaricus    | No.1 | ブルガリア桿菌 |
| 2  | "                  | 2    | "       |
| 3  | Bac. Koernchen     | No.1 | 顆粒桿菌    |
| 4  | "                  | 2    | "       |
| 5  | "                  | 3    | "       |
| 6  | "                  | 4    | "       |
| 7  | Bac. Acidophilus   | No.1 | 嗜酸桿菌    |
| 8  | "                  | 2    | "       |
| 9  | "                  | 3    | "       |
| 10 | "                  | 4    | "       |
| 11 | "                  | 5    | "       |
| 12 | "                  | 6    | "       |
| 13 | Micrococcus Lactis | No.1 | 乳酸球菌    |
| 14 | "                  | 2    | "       |
| 15 | "                  | 3    | "       |
| 16 | "                  | 4    | "       |
| 17 | Yeast              | No.1 | 酵母菌     |
| 18 | "                  | 2    | "       |
| 19 | "                  | 3    | "       |
| 20 | "                  | 4    | "       |

【0006】本発明に係る濃縮飲料は、酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液を濃縮することにより得られるが、複数種の有益菌のグループ分けとしては、例えば表2に示すような場合を挙げることができる。

【0007】

【表2】

濃縮飲料製造の第5工程における有益菌のグループ分類

|          |                      |
|----------|----------------------|
| I グループ   | 1 + 3 + 9 + 13 + 17  |
| II グループ  | 2 + 4 + 10 + 14 + 18 |
| III グループ | 7 + 5 + 11 + 15 + 19 |
| IV グループ  | 8 + 6 + 12 + 16 + 20 |

(注: 数字は表1中の数字を表す)

【0008】本発明に係る濃縮飲料を分析すると、タンパク質、リン、鉄、カルシウム、サイアミン(ビタミンB<sub>12</sub>)、リボフラビン(ビタミンB<sub>2</sub>)などが含まれていることが判明した。分析結果の一例を表3に示す。

【0009】

【表3】

## 濃縮飲料の分析結果

| 分析試験項目                          | 結果           | 検出限界 | 注 | 分析方法            |
|---------------------------------|--------------|------|---|-----------------|
| たんぱく質                           | 5.6 %        |      | 1 | ケルダール法          |
| リ　　ン                            | 304 mg/100g  |      |   | バナドモリブデン酸吸光光度法  |
| 鉄                               | 1.72 mg/100g |      |   | o-フェナントロリン吸光光度法 |
| カルシウム                           | 165 mg/100g  |      |   | 過マンガン酸カリウム容量法   |
| サイアミン<br>(ビタミンB <sub>1</sub> )  | 0.03 mg/100g |      | 2 | 高速液体クロマトグラフ法    |
| リボフラビン<br>(ビタミンB <sub>2</sub> ) | 0.12 mg/100g |      |   | 高速液体クロマトグラフ法    |
| 全　　糖                            | 11.9 %       |      | 3 | ソモギー変法          |
| 滴定酸度                            | 87.8         |      | 4 |                 |
| pH                              | 3.8          |      |   | ガラス電極法          |

注1：窒素・たんぱく質換算数；6.25

注2：サイアミン塩酸塩として。

注3：ぶどう糖換算、加水分解条件；2.3 %塩酸、沸騰浴中、2.5 時間

注4：供試品100gを中和する1Nのアルカリ滴定ml数。

【0010】また、本発明に係る濃縮飲料中には、アミノ酸として、スレオニン、バリン、リジン、ロイシンなどの必須アミノ酸のほか、グルタミン酸、アスパラギン酸、アルギニンなど20種近いアミノ酸を確認することができた。

【0011】ところで、本発明に係る濃縮飲料には炎症抑制作用及び感染症防御作用があることが分かった。その作用をデータとともに詳細に説明する。なお、本発明に言う炎症とは関節炎ならびにアレルギー反応など急性及び慢性の各種炎症を含む概念である。完全Freundアジュバント（0.1ml の軽無機油に0.3mg の殺菌M.tubercu

osisを懸濁したもの）を後足に接種したラットを用いて、アジュバント関節炎テストを行った。完全Freundアジュバントの接種により、接種後5～18日間にわたりラットの足に腫れが生じたが、このラットに本発明に係る濃縮飲料を接種1時間から連日5日間にわたって一日2回100 %濃度で経口投与した。また、0.5% C.M.C.（カルボキシル・メチル・セルロース）、ヒドロコルチゾン（30mg/Kg）を同じようにラットに経口投与した。それらの結果を表4に示す。

【0012】

【表4】

7  
ラットにおけるアジュバント誘発足趾浮腫抑制試験

8

| 化 合 物                        | 動物<br>番号 | 投与量 <sup>(a)</sup> | 足趾浮腫量(ml)と<br>阻 害 率 (%)     |                            | 体重増加<br>(g) | 多 発 性<br>関 節 炎 <sup>(c)</sup> |   |   |   |
|------------------------------|----------|--------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------|-------------------------------|---|---|---|
|                              |          |                    | (5-0)                       | (18-14)                    | (18-0)      | P                             | T | N | E |
| 0.5%C.M.C.<br><sup>(b)</sup> | 1        | 10ml/Kg×5          | 1.21                        | 0.38                       | 60          | +                             | + | - | - |
|                              | 2        | 10ml/Kg×5          | 1.58                        | 0.42                       | 20          | +                             | + | - | - |
|                              | 3        | 10ml/Kg×5          | 1.09                        | 0.38                       | 60          | +                             | + | - | - |
|                              | 4        | 10ml/Kg×5          | 1.05                        | 0.52                       | 60          | +                             | + | - | - |
|                              | 5        | 10ml/Kg×5          | 1.27                        | 0.30                       | 35          | -                             | + | - | - |
|                              |          | 平 均                | 1.24                        | 0.40                       | 47          |                               |   |   |   |
| 本発明に係る<br>濃縮飲料               | 6        | 100%×5             | 0.86                        | 0.22                       | 40          | -                             | - | - | - |
|                              | 7        | 100%×5             | 0.81                        | 0.09                       | 40          | +                             | - | - | - |
|                              | 8        | 100%×5             | 1.12                        | 0.11                       | 60          | +                             | - | - | - |
|                              | 9        | 100%×5             | 0.99                        | 0.43                       | 55          | -                             | + | - | - |
|                              | 10       | 100%×5             | 1.02                        | 0.10                       | 60          | -                             | - | - | - |
|                              |          | 平 均<br>阻害%         | 0.96* <sup>(d)</sup><br>23  | 0.19* <sup>(d)</sup><br>53 | 51          |                               |   |   |   |
| ヒドロコルチ<br>ゾン                 | 11       | 30mg/Kg×5          | 0.93                        | 0.42                       | 40          | +                             | + | - | - |
|                              | 12       | 30mg/Kg×5          | 0.94                        | 0.40                       | 20          | -                             | + | - | - |
|                              | 13       | 30mg/Kg×5          | 0.71                        | 0.30                       | 5           | +                             | + | - | - |
|                              | 14       | 30mg/Kg×5          | 0.97                        | 0.32                       | 50          | -                             | + | - | - |
|                              | 15       | 30mg/Kg×5          | 0.80                        | 0.26                       | 40          | -                             | - | - | - |
|                              |          | 平 均<br>阻害%         | 0.87** <sup>(d)</sup><br>30 | 0.34<br>15                 | 31          |                               |   |   |   |

注: (a) 0.5%C.M.C.液は体重1Kg当りの投与容量により、濃縮飲料は体重1Kg当りに10mlを投与した飲料の濃度により、また、ヒドロコルチゾンと同容量を投与した体重1Kg当りの薬物重量にて表示した。

(b) C.M.C.:カルボキシル・メチル・セルロース

(c) P:前足 T:尾部 N:首部 B:耳

(d) \*:p<0.05 \*\*:p<0.01 t検定による

【0013】表4から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料を経口投与することにより、前記ラットの足の腫れを効果的に減少させることができる。足の腫れの阻害は急性期（0日目から5日目、 $p<0.05$ 、t検定）と後期（14日目から18日目、 $p<0.05$ ）両方で観察された。これに対して、ヒドロコルチゾンは急性期で効果が認められた（ $p<0.01$ 、t検定）が、後期では効果がなかった。一方、後足から前足への炎症の転移は、0.5%C.M.C.を経口投与した場合には4/5であるのに対し、本発明に係る濃縮飲料を経口投与した場合には2/5であり（表4のPの項参照）、また、尾部への炎症の転移は、0.5

30 の炎症の転移を抑えている（0.5%C.M.C.を経口投与した場合の4/5に対し、本発明に係る濃縮飲料を経口投与した場合と同じく2/5、表4のPの項参照）が、尾部への炎症の転移では抑制し得なかった（0.5%C.M.C.を経口投与した場合と同じく4/5、本発明に係る濃縮飲料を経口投与した場合には1/5、表4のTの項参照）。

【0014】また、カラゲナン（1%懸濁液）0.1mlを後趾内に投与したラットを用いて、カラゲナン誘発足趾浮腫試験を行った。カラゲナンの投与により、3時間後にラットの後足に腫れが生じたが、このラットに本発明に係る濃縮飲料を100%濃度でカラゲナン投与1時間前に単回経口投与した。また、蒸留水（20ml/Kg）、アスピリン（150mg/Kg）を同じようにラットに経口投与した。それらの結果を表5に示す。

【0015】

【表5】

## ラットにおけるカラゲニン誘発足趾浮腫抑制試験

| 化合物        | 投与量 <sup>(a)</sup> | 動物数 | 後肢足趾浮腫量<br>(×0.01ml) |           |           | P値 <sup>(b)</sup> |
|------------|--------------------|-----|----------------------|-----------|-----------|-------------------|
|            |                    |     | 右                    | 左         | 差異        |                   |
| 蒸留水        | 20ml/Kg            | 6   | 101.5±2.5            | 196.8±2.7 | 93.7 ±1.6 | p<0.01            |
| 本発明に係る濃縮飲料 | 100%               | 6   | 105.4±3.8            | 167.6±6.3 | 62.2 ±6.7 |                   |
| 本発明に係る濃縮飲料 | 50%                | 5   | 107.2±2.4            | 201.7±2.6 | 94.5 ±1.7 | p>0.05            |
| アスピリン      | 150mg/Kg           | 6   | 107.0±2.7            | 171.0±3.0 | 64.0 ±1.8 | p<0.01            |

注：(a) 蒸留水は体重1Kg当りの投与容量により、濃縮飲料は体重1Kg当り20mlで投与した飲料の濃度により、アスピリンは同容量を投与した薬物の体重1Kg当りの重量にて表示した。

(b) Dunnett多重比較テストを用いて統計処理を行っている。P値は後肢浮腫量のテストサンプルと蒸留水群の比較より算出した。

【0016】表5から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料を経口投与した場合には、抗炎症効果が認められる。

【0017】次に、皮膚内反応体(IgE) 性抗卵白アルブミン血清(0.5ml) によって24時間前に感作されたラットを用いて受動的皮膚Analyaxis試験を行った。このラットの皮膚は卵白アルブミンによって30分後にアレルギー\*

\* 反応を起したが、このラットに本発明に係る濃縮飲料を100%濃度と50%濃度でそれぞれ卵白アルブミン投与120時間前に単回経口投与した。また、蒸留水(20ml/Kg)、アスピリン(3mg/Kg)を同じようにラットに経口投与した。それらの結果を表6に示す。

【0018】

【表6】

## ラットにおけるIgE誘発皮膚反応に対する抑制試験

| 化合物        | 投与量 <sup>(a)</sup> | 動物数 | IgE反応        |        |
|------------|--------------------|-----|--------------|--------|
|            |                    |     | 皮膚膨疹の大きさ(mm) | 阻害率(%) |
| 蒸留水        | 20ml/Kg            | 3   | 30           |        |
| 本発明に係る濃縮飲料 | 100%               | 3   | 12           | 60     |
| 本発明に係る濃縮飲料 | 50%                | 3   | 30           | 0      |
| シプロヘプタジン   | 3mg/Kg             | 3   | 2            | 93     |

注：(a) 蒸留水は体重1Kg当りの投与容量により、濃縮飲料は体重1Kg当り20mlで投与した飲料の濃度により、シプロヘプタジンは同容量投与した薬物の体重1Kg当りの重量にて表示した。

【0019】表6から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料を100%濃度で経口投与した場合には、卵白アルブミンによって生じたアレルギー反応を効果的に阻害することが認められる。なお、ラットは皮膚内反応体(IgE) 性抗卵白アルブミン血清(0.5ml) によって24時間前に感作された。阻害率(%)を計算するに当たっては、卵白アルブミン(1mq)にEvans ブルー(5mq)を加えたものを静脈内投与し、30分後の皮膚膨疹反応を記録することにより行った。

【0020】また、ヒスタミン二りん酸(0.05mlに30μg)を接種したラットを用いて受動的皮膚Analyaxis試験を行った。接種してから10分後のラットの皮膚には、膨疹が見られたが、このラットに本発明に係る濃縮飲料を100%濃度で経口投与した。また、蒸留水(20ml/Kg)、シプロヘプタジン(3mq/Kg)を同じようにラットに経口投与した。それらの結果を表7に示す。

【0021】

【表7】

ラットにおけるヒスタミン誘発皮膚反応に対する抑制試験

| 化 合 物      | 投与量 <sup>(a)</sup> | 動物数 | ヒ ス タ ミ ン 反 応 |        |
|------------|--------------------|-----|---------------|--------|
|            |                    |     | 皮膚膨疹の大きさ(mm)  | 阻害率(%) |
| 蒸 留 水      | 20ml/Kg            | 3   | 30            |        |
| 本発明に係る濃縮飲料 | 100 %              | 3   | 30            | 0      |
| シプロヘプタジン   | 3mg/Kg             | 3   | 14            | 53     |

注：(a) 蒸留水は体重1Kg当りの投与容量により、濃縮飲料は体重1Kg当り20mlで投与した飲料の濃度により、シプロヘプタジンは同容量投与した薬物の体重1Kg当りの重量にて表示した。

【0022】表7から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料はヒスタミンに対しては作用しないことが認められる。なお、阻害率(%)を計算するに当っては、皮膚内ヒスタミン二りん酸(0.05mlに30μg)接種後10分における皮膚膨疹の減少を記録することにより行った。

【0023】以上から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料には、関節炎ならびにアレルギー反応など急性及び慢性の各種炎症抑制作用があることが分かる。本発明に係る濃縮飲料は、酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液である微生物醗酵生産物のろ液を濃縮することにより得られたものであるから、健康飲料として適している。

【0024】

【発明の実施の形態】以下、具体例を挙げて本発明に係る濃縮飲料をさらに詳細に説明する。本発明に係る濃縮飲料は酵母菌と乳酸菌とからなるものであり、さらに詳しくは、酵母菌と乳酸菌から選ばれた複数種の有益菌を特定の組み合わせで共生培養して得られた培養液のろ液を濃縮することにより生成される。培養基として、大豆からの豆乳を使用するのが最適である。乳酸菌の培養には一般に牛乳が多く用いられているが、牛乳の不均一性、経時変化性、その生産過程における薬剤等の使用混入等を考慮し、さらに、人工添加物を一切使用しない自然飲料という観点から、培養基として、自然食品であって、かつ、完全無農薬保証大豆(アイオワ州産)からの豆乳を使用するのが最適である。また、本発明に係る濃縮飲料は、培養完了後において生菌を加熱殺菌して菌体を除去し、この菌体を分離した培養液のろ液を約15分の1に濃縮することにより生成するのが好ましい。

【0025】次に、本発明に係る濃縮飲料の製造方法の一例を挙げる。その一例として、特許第1962512号(特公平6-95914号)を挙げることができる。

(1) 第1工程(特殊寒天培養基の製造)

精製された天然の寒天に、蒸留水により湯煎された牛肉、昆布から得られたスープと塩分と有益菌培養液とを加えて特殊寒天培養基を製造する。

(2) 第2工程(有益菌の純粋培養)

第1工程で製造された特殊寒天培養基に有益菌を各種類ごと移植し、これを恒温器に入れて39℃で48～50時間培養する。

(3) 第3工程(特殊豆乳培養基の製造)

大豆より脂肪を除き、蒸留水を加えたものを70～110℃煮沸後、ろ過した豆乳のろ液に、塩、三温糖および有益菌培養液を加えて特殊豆乳培養基を製造する。

(4) 第4工程(有益菌の特殊豆乳培養基による純粋培養)

第3工程で製造された特殊豆乳培養基に第2工程で純粋培養された有益菌を各種類ごと移植し、恒温器に入れて39℃で48～50時間培養する。

(5) 第5工程(有益菌の中量馴化培養)

第3工程で得られた特殊豆乳培養基に第4工程で製造された純粋培養された有益菌をグループにより分け、そのグループごと移植して39℃で48～50時間馴化培養する。

(6) 第6工程(有益菌の工業共生培養)

第3工程で得られた特殊豆乳培養基13リットルの中に、第5工程で製造されたグループに従って、馴化培養した生菌を一括移植し、40℃で100～120時間一括共生培養を行う。

(7) 第7工程(培養の停止と濃縮)

第6工程で製造された共生培養液を100℃で30分加熱することによって生菌の繁殖を止め、次に、生菌を分離除去し、得られたろ液を約15分の1(93～96%の水分を除去する)にまで濃縮する。

(8) 第8工程(熟成)

第7工程により得られた濃縮液を、17℃に3ヶ月以上静置して熟成させる。

以上の工程により得られた生産物を容器に封入し、法定加熱を経て濃縮飲料製品とする。

【0026】本発明に係る濃縮飲料はこのような工程を経て製造することができ、要約すると酵母菌と乳酸菌との醗酵生産物であるということができる。人工添加物無添加の自然健康飲料であるということもできる。この濃縮飲料には上述したように炎症抑制作用があり、これを



飲用することにより関節炎ならびにアレルギー反応など急性及び慢性の各種炎症を抑制することができる。

【0027】なお、本発明に係る濃縮飲料は免疫抑制作用を合わせ持つものである。マウスモデルを使った *in vivo* (生体内試験) において本発明に係る濃縮飲料の免疫抑制に関する試験を行ったところ、感染動物の対照と比較して20%の生存率の上昇を示し、シクロホスファミド処理による免疫抑制試験では30%の生存率増大を示した。これらの結果から、本発明に係る濃縮飲料に免疫抑制作用があることが分かった。以下、免疫抑制試験について、簡単に説明する。

【0028】(免疫調整試験) サブロー液体培地(Difco、デトロイト、アメリカ合衆国ミシガン州)(以下、Sβ培地と略称する)を培養培地として、*Candida albicans*(ATCC10231)を37℃、16時間通気培養し、対数増殖菌を取得した。90~100%の死亡率を期待できるカビの量を含む接種物はリン酸バッファー溶液(以下、PBSと略称する)で一夜培養液を希釈することにより調製した。接種物の生存カビの数は550nmでの濁度をもとに測定し、連続希釈液をSβ寒天プレート上に接種培養することにより正確に測定した。オスICRマウス(5週齢、約24g)に希釈接種物0.2mlを静注した。接種量はマウス当たり $1.5 \times 10^7$  から  $2.0 \times 10^7$  CFUであった。

【0029】(免疫回復試験) 前記サブロー液体培地を培養培地として、*Candida albicans*(ATCC10231)を37℃、16時間の通気培養をし、対数増殖菌を取得した。正常マウスで0~10%の死亡率、免疫抑制マウスでは70%の死亡率を期待できるカビの量を含む接種物はPBSで一夜培養液を希釈することにより調製した。接種物の生存カビの数は550nmでの濁度をもとに測定し、連続希釈液をSβ寒天プレート上に接種培養することにより正確に測定した。オスICRマウス(4週齢、約20g)に希釈接種物0.2mlを静注した。接種量はマウス当たり $6 \times 10^6$  から  $8 \times 10^6$  CFUであった。本発明に係る濃縮飲料とアジメキソン(Azimexone)はPBS(pH7.4)で可溶化して希釈した。オスICRマウス(4週齢、約20g)に腹腔内投与(i.p.)によって0.8mlのテスト化合物またはPBSを1、3、5日目に投与し、免疫抑制剤シクロホスファミド(30mg/Kg)を経口投与(p.o.)により2、4、6日目に与えた。7日目において、マウスには0.2mlの*Candida albicans*希釈接種物を接種し、次に、生存動物を接種後10日間にわたり記録した。\*

\*【0030】(in vivo 効果) 免疫調整試験においては、個々の投与群あたりに10匹のICRマウスを用い、腹腔内投与(i.p.)によって各マウスに1%量と0.1%量の本発明に係る濃縮飲料または100mg/Kgのアジメキソン(Azimexone)を投与し、10回行った実験における死亡数を1日ごと蓄積し、それを総計した。PBS対照群では、89%の死亡率(100匹のうち89匹死亡)であったが、本発明に係る濃縮飲料を投与した場合には約70%にまで減少した(1%量を投与した場合には、100匹のうち70匹死亡、0.1%量を投与した場合には、100匹のうち72匹死亡)。アジメキソンを投与した場合の死亡率は82%(50匹のうち41匹死亡)であった。

【0031】また、免疫回復試験においても、個々の投与群あたりに10匹のICRマウスを用い、各マウスに1%と0.1%濃度の本発明に係る濃縮飲料または100mg/Kgのアジメキソンを個々に腹腔内投与(i.p.)し、8回行った実験における死亡数を1日ごと蓄積し、それを総計した。PBSとシクロホスファミド投与対照群は、75%の死亡率(80匹のうち60匹死亡)が、本発明に係る濃縮飲料を投与した場合には35%と43%に減少した(1%濃度を投与した場合には、80匹のうち28匹死亡、0.1%濃度を投与した場合には、80匹のうち34匹死亡)。アジメキソン投与群の死亡率は50%(80匹のうち40匹死亡)であった。

【0032】このように、免疫調整試験において、本発明に係る濃縮飲料は感染動物の対照と比較して20%の生存率の上昇を示し、また、シクロホスファミド処理による免疫抑制に対する回復試験では30%~40%の生存率上昇を示した。以上から明らかなように、本発明に係る濃縮飲料には免疫調整、回復作用があることが分かる。すなわち、免疫機能が正常な場合と抑制状態にある場合のカビ感染に対して免疫を調整、回復させる作用があるから、各種感染症又は日和見感染症を防御することが可能である。

【0033】

【発明の効果】本発明に係る濃縮飲料には、炎症抑制作用があるから、これを飲用することにより関節炎ならびにアレルギー反応など急性及び慢性の各種炎症を抑制することができるのみならず、免疫調整、回復作用もあることから、各種感染症又は日和見感染症を防御することもできる。

【手続補正書】

【提出日】平成10年11月20日(1998.11.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正内容】

【0009】

【表3】

## 濃 縮 飲 料 の 分 析 結 果

| 分 析 試 験<br>項 目                  | 結 果          | 注 | 分 析 方 法        |
|---------------------------------|--------------|---|----------------|
| たんぱく質                           | 5.6 %        | 1 | ケルダール法         |
| リ ン                             | 304 mg/100g  |   | バナドモリブデン酸吸光度法  |
| 鉄                               | 1.72 mg/100g |   | o-フェナントロリン吸光度法 |
| カルシウム                           | 165 mg/100g  |   | 過マンガン酸カリウム容量法  |
| サイアミン<br>(ビタミンB <sub>1</sub> )  | 0.03 mg/100g | 2 | 高速液体クロマトグラフ法   |
| リボフラビン<br>(ビタミンB <sub>2</sub> ) | 0.12 mg/100g |   | 高速液体クロマトグラフ法   |
| 全 糖                             | 11.9 %       | 3 | ソモギー変法         |
| 滴定酸度                            | 87.8         | 4 |                |
| pH                              | 3.8          |   | ガラス電極法         |

注1：窒素・たんぱく質換算数；6.25

注2：サイアミン塩酸塩として。

注3：ぶどう糖換算、加水分解条件；2.3 %塩酸、沸騰浴中、2.5 時間

注4：供試品100gを中和する1Nのアルカリ滴定ml数。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

ターマコード (参考)

A 6 1 P 31/00

A 6 1 K 35/74

G

A 6 1 K 35/74

35/78

J

35/78

A 2 3 L 2/00

F

F ターム (参考) 4B017 LC03 LG08 LK21 LP01 LP02  
LP054B018 LB08 LE05 MD81 MD86 ME07  
ME14 MF06 MF134C087 AA01 AA02 BC11 BC56 BC58  
BC61 BC64 BC70 MA02 MA17  
NA05 NA14 ZA96 ZB08 ZB11  
ZB13 ZB35 ZC21 ZC224C088 AB61 AC04 AD17 AD22 BA04  
BA08 CA25 MA17 NA06 NA14  
ZA96 ZB08 ZB11 ZB13 ZB35  
ZC21 ZC22

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**